Aus der Medizinischen Universitäts-Poliklinik in Marburg.
Direktor: Prof. Dr. F. Klewitz

Ueber Wachstumshemmung bei perniciöser Anämie.

(Untersuchungen am Lupinus albus.)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Gesamten Medizin der Hohen medizinischen Fakultät der Universität Marburg a. d. Lahn

Vorgelegt von Heinrich Wiebel
aus Barmen

Marburg 1933.

Druck der Kurhessischen Verlagsdruckerei, Marburg-Lahn, Pilgrimstein 23

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
in Marburg am 20. Februar 1933.
Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät
Referent: Prof. Dr. F. Klewitz

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Im Jahre 1926 veröffentlichte Macht [1] Beobachtungen, die er bei Versuchen mit Keimen des Lupinus albus am Serum perniciöser Anämien gemacht hatte. Schon vorher hatte er den Einfluß von verschiedenen Giften, wie Kokain und Menotoxin auf das Wachstum der Lupinenkeimlinge untersucht. Er fand, daß das Wachstum gehemmt wurde, und machte dieselbe Feststellung auch für das Serum perniciöser Anämien. In einer großen Reihe von Versuchen [2,3] stellte er den Wachstumsindex (s. unten) für das Perniciosaserum fest und fand, daß seine Toxicität durch ultraviolette Bestrahlung vermindert wurde. Diese entgiftende Wirkung der Bestrahlung konnte er durch Sensibilisatoren wie Tetrabromfluorescin, Eosin, auch Hämatoporphyrin steigern. Toxicität des Serums und Besserung der Krankheit gingen nicht Hand in Hand, am ehesten noch bei der Leberbehandlung und bei Bestrahlung + Sensibilisierung. Bei anderen Anämien fand er diese Hemmung des Wachstums nicht. Er glaubte, aus den Ergebnissen schließen zu dürfen, daß im Serum perniciöser Anämien ein Toxin für die Wachstumshemmung verantwortlich zu machen sei, welches mit den im Blut Menstruierender, anderer Anämien und verschiedener Erkrankungen vorkommenden hemmenden Stoffen nicht identisch sei.

Adler, Sinek und Reimann [4] bestätigen die Macht'schen Versuche. Sie haben gefunden, daß „Normalblut seine bakterizide Fähigkeit gegen Bakterium coli hämolyticum durch Zusatz von bakterienfreien Filtraten einer Bouillonkultur dieses Keimes verliert" und daß „der Macht'sche Versuch durch denselben Zusatz gleichsinnig zu beeinflussen ist." Auch Bregmann [5] bestätigt die Beobachtungen Machts am Serum perniciöser Anämien und anderer Erkrankungen in ihrem Einfluß

auf das Wachstum der Lupinenkeimlinge. Zu demselben Ergebnis sind Tscherkes und Goldstein [6] gekommen, die gefunden haben, daß Lebertherapie den Wachstumsindex für das Perniciosaserum nicht ändert.

Tscherkes [7] stellt aber fest, daß eine gesteigerte Wachstumshemmung für die perniciöse Anämie nicht spezifisch ist, sondern auch in anderen Fällen gefunden wird. Upjohn, Isaacs und Gustafson [8] stimmen Macht insofern bei, als sie dem Serum ganz allgemein einen Einfluß auf das Wachstum der Lupinenkeimlinge zusprechen. Das Serum perniciöser Anämien verhält sich jedoch nicht viel anders. Auch Meyran und Nothhaas [9] kommen bei einer Nachprüfung der Macht'schen Versuche zu einer Ablehnung der Angaben Machts, da das Serum anderer Anämien das Wachstum der Lupinen nicht anders beeinflußt wie Perniciosaserum auch. Johanning [10] hat bei einer Reihe perniciöser Anämien ganz unterschiedliche Ergebnisse gefunden, die sich nicht unterscheiden von denen, die er bei Versuchen mit Leukämie, Tuberkulose, sekundären Anämien, Pneumonien, chronischer Arthritis, Scharlach und Röteln fand. In einer Anzahl von Vergleichsversuchen mit reiner Nährlösung konnte er keine einheitlichen Ergebnisse erzielen. Zu einer Ablehnung der Macht'schen Versuche kommt auch Wachstein [11]. Er fand, daß das Serum perniciöser Anämien nicht immer verstärkt hemmt, und daß der Index unabhängig ist von Blutbefund und Therapie. Serum anderer Anämien und Krankheiten hemmte nicht anders. Aufkochen zerstörte die Hemmung nicht, während sie nach Ultrafiltration aufgehoben war. Ein Alkoholextrakt zeigte ungleiches Wachstum. Versuche mit verschiedenen Mengen von Serum unter 1% verhielten sich unterschiedlich.

So wie Macht bei der Anämia perniciosa ein Gift im Serum annimmt, ist unter anderen Autoren nach Davidson [12] primär die Anwesenheit eines gastrointestinalen Toxins. Adler, Sinek und Reimann [13] finden bei perniciöser Anämie im Duodenum Colibazillen, die bei Arsen- und Lebertherapie zurückgehen. Sie nehmen an, daß dies auf eine toxische Komponente in der Genese der perniciösen Anämie hindeutet. Vedder [14]

findet für Perniciosaserum niedrigere Indices als für andere Sera, hält aber, obwohl er die Macht'schen Ergebnisse zum Teil bestätigt findet, diese nicht für so spezifisch und konstant, und sieht die Macht'sche Toxintheorie als unbewiesen an. Jungmann [15] fand in einigen Fällen neben einer Störung der Darmfunktion bei Anämia perniciosa eine Störung im Säure-Basen-Gleichgewicht. Die Wasserstoffionenkonzentration war zum Sauren hin verschoben. Nach Balint und Weiß [16] ist die aktuelle Reaktion von Einfluß auf das Wachstum der Lupinenkeimlinge, saures Serum hemmt, alkalisches fördert es. Balint [17] bestätigt dies noch einmal neben der Beobachtung, daß auch das Serum Ulcuskranker besonderen Einfluß auf Lupinenkeimlinge nimmt. Macht [2,3] dagegen lehnt einen Unterschied in der aktuellen Reaktion als Ursache der verschiedenen Wachstumskoeffizienten ab.

Es soll nicht Aufgabe dieser Arbeit sein, festzustellen, welche Sera der verschiedensten Erkrankungen oder blutchemischen und hormonalen Veränderungen überhaupt einen gesteigerten hemmenden Einfluß auf das Wachstum von Lupinenkeimlingen haben. Vielmehr wurde die Frage auf die perniciöse Anämie beschränkt. Es sollte nachgeprüft werden, ob wirklich Perniciosaserum gesteigerten wachstumshemmenden Einfluß auszuüben vermag, wie dies von verschiedenen Autoren ⟨s. oben⟩ angegeben wird, und ob diese Eigenschaft des Serums zur Diagnose und Differentialdiagnose gegenüber anderen Anämien verwertbar ist. Und für den Fall, daß sich das Erste bestätige, sollte versucht werden, die chemische Natur des hemmenden Prinzipes herauszufinden. Da schon Normalserum gegenüber den Kontrollversuchen, die in einer den Pflanzen optimalen Nährlösung ⟨Shivelösung, s. unten⟩ ausgeführt wurden, wachstumshemmenden Einfluß ausübt, mußte auch dessen Ausmaß festgestellt werden. So ergaben sich folgende Fragen zur Beantwortung:

I. Wie verhält sich das Wachstum der Keimlinge in Nährlösung?

II. In welchem Verhältnis steht das Wachstum der Keimlinge in Normalserum + Nährlösung zu dem in reiner Nährlösung?
III. Zeigt das Perniciosaserum Abweichungen in seiner hemmenden Eigenschaft?
IV. Ist eine verstärkte Hemmung spezifisch für Perniciosaserum oder findet sie sich auch bei anderen Anämien?
V. Gelingt es, die chemische Natur des hemmenden Prinzipes herauszufinden?

Methodik.

Bezüglich der Methodik wurde im Wesentlichen in der von Macht angegebenen Weise verfahren. Indem auf die Veröffentlichungen dieses Verfassers verwiesen wird, sei hier nur kurz die für diese Versuchsreihen gehandhabte Methodik aufgeführt.

In Uebereinstimmung mit Macht wurden die Versuche mit dem Samen von Lupinus albus ausgeführt. Nur in jeder Beziehung einwandfreie Samen wurden verwendet.*) Die einzelnen Abschnitte bei der Ausführung der Versuche sind folgende:

1. Die Samen werden in 2–3 facher Menge der zu dem Versuch benötigten Anzahl von Keimlingen 18–24 Stunden im verdunkelten Raum bei Zimmertemperatur in Leitungswasser vorgekeimt.

2. Die vorgekeimten und ausgesuchten Samen werden mit den Hylum nach unten so in den Nährboden eingepflanzt, daß der obere Pol ein wenig noch über die Oberfläche hervorragt.

Zubereitung des Nährbodens: Sphagnummoos wird getrocknet und am zweckmäßigsten in einem Mörser zu Pulver zerrieben. Ein gleichmäßiger Feuchtigkeitsgrad wird durch regelmäßiges Besprengen mit einer Blumenspritze und Durchmengen vor und nach jedem Versuch erreicht. Der Nährboden muß locker sein. Ist er zu feucht, tritt Klumpenbildung ein, die das senkrechte Wachstum der Keimlinge stört; ist er zu trocken, läßt sich ein gleichmäßiges Wachstum nicht erreichen. Um Fäulnisprozessen vorzubeugen und eine Durchlüftung zu erzielen, ist das Moos hin und wieder, in dünner Schicht ausgebreitet, Sonne und Luft auszusetzen. So wird erreicht, daß

*) Die Samen des Lupinus albus wurden von der Samenhandlung Wissinger in Berlin bezogen.

der Nährboden viele Monate zu verwenden ist. Die Tiefe der Moosschicht beträgt 10—15 cm.

Im Schatten bei Zimmertemperatur wachsen die Keime und gehen bei sorgfältiger Auswahl der Samen so gut wie 100%ig an. Nach 3-tägigem Wachstum im Nährboden haben sie eine Länge von etwa 3 cm erreicht und sind nunmehr für die eigentlichen Versuche verwendbar. Die lockere Beschaffenheit des Nährbodens verbürgt im allgemeinen ein senkrechtes, gradliniges Wachstum der Keime, wodurch die Messung (s. unten) wesentlich erleichtert wird.

3. Die Keime werden aus dem Nährboden herausgenommen, und die für die Versuche notwendige Anzahl unter ihnen ausgesucht. Nur ganz gradlinig gewachsene Keimlinge sind zu verwerten, auch sollen für den einzelnen Versuch nur möglichst gleichlange Keimlinge verwendet werden. Sie werden nach der Entnahme aus dem Nährboden von anhaftenden Moosteilen mit einem Haarpinsel gereinigt.

4. Die so vorbereiteten und als geeignet für weitere Verwendung ausgesuchten Keime werden nunmehr gemessen. Die Messung erfolgt derart, daß die Länge der Wurzel von ihrer Austrittsstelle bis zur Spitze festgestellt wird. Nach der Messung kommen die Keime in Gläser mit Nährlösung bezw. mit der Mischung aus Nährlösung und dem zu untersuchenden Stoff, z. B. dem Serum. Jeder Versuch besteht aus einer Serie von 10 Keimlingen. Bei Zimmertemperatur wachsen die Keime im Dunkeln weiter.

Zweckmäßig sind Reagenzgläser mit breit erweitertem Hals, in denen die Wurzeln der Keime freischwebend in die Lösung herabhängen können.

Die Nährlösung besteht aus gleichen Teilen Shivelösung und Aqua dest. Shivelösung ist ein Gemisch von

10,4 ccm 0,5 molarem Calc. nitricum
30,0 „ 0,5 „ Magn. sulfuricum
36,0 „ 0,5 „ Kal. biphosphoricum

und aqua dest. auf 1000 ccm.

5. Nach 24 stündigem Verweilen in der Lösung wird die Längenzunahme der Wurzeln in der oben angegebenen Weise gemessen.

Bei allen Versuchen, ob mit reiner Nährlösung oder mit Zusatz anderer Stoffe, wurde die durchschnittliche Zunnahme im Verhältnis zur durchschnittlichen Anfangslänge der Serie bestimmt und in Prozenten ausgedrückt. Als normales Wachstum galt das der Keime in Nährlösung. Das Verhältnis der prozentualen Zunahme in reiner Nährlösung zu der prozentualen Zunahme in Nährlösung + Untersuchungsmaterial gibt den Wachstumsindex an, wenn dabei die prozentuale Zunnahme in der Nährlösung = 100 gesetzt wird. Beispiel:

	Nährlös.	Nährlös. + Norm. Serum
Durchschn. Anfangslänge	3,0	3,4
„ Länge nach 24 Std.	5,0	5,0
„ Zunahme der Länge	2,0	1,6
Proz. Zunahme:	$\frac{2{,}0\times100}{3{,}0} = 66{,}6\%$	$\frac{1{,}6\times100}{3{,}4} = 47{,}1\%$
Wachstumsindex d. Norm. S. ⟨Zunahme in Nährl.=100⟩		$\frac{47{,}1\times100}{66{,}6} = 70{,}0$

Es weicht diese Berechnung von der bisher allgemein üblichen Methode, die Macht angegeben hat, ab. Nach ihr wird „das Maß des Wachstums in irgend einem Medium im Verhältnis zu dem der Sämlinge in Normallösung ausgedrückt." Die Zunahme des Keimlings in Centimetern ausgedrückt gibt kein genaues Bild über sein Wachstum. Ein kurzes Beispiel wird den Mangel am besten erhellen. Die Zahlenwerte sind etwas unwirklich, aber absichtlich so gewählt, um den Unterschied deutlich hervor zu heben.

Die Keime seien sowohl in Nährlösung wie auch in Nährlösung + Normalserum um 1 cm gewachsen. Nach Macht ist der Index für beide Versuche 100. Nehmen wir an, die Anfangslänge der Keime in Nährlösung sei 3,2 cm, die deren in Nährlösung + Normalserum 3,9 cm, so ist die prozentuale Zunahme für die Ersten 32,3%, für die letzten 25,6%. Hieraus berechnet lautet der Index für die Nährlösung 100, für Nährlösung + Normalserum 79,3, also ein Unterschied von 20,7.

Es empfiehlt sich, die Indices unter Berücksichtigung der Ausgangslänge zu berechnen, da besonders bei mangelhafter Technik auf diese Weise Fehler vermieden werden können.

Bei allen Versuchen wurden die Ergebnisse sowohl nach der eigenen, wie auch nach der Macht'schen Methode berechnet. Die Werte stimmen meistens überein. Wo sie wesentlich von einander abweichen, sind die nach der Macht'schen Methode berechneten Indices in Klammern hinzugefügt.

Jeder Versuchsreihe mit nur wenigen Ausnahmen wurde ein Versuch mit Normalserum hinzugefügt, um nicht nur eine Kontrolle gegenüber der reinen Nährlösung zu haben, sondern auch die Unterschiede in jedem einzelnen Fall zum Normalserum zu beobachten. Jeder Versuch, bis auf einige wenige, bestand also aus je einer Serie von Keimlingen in Nährlösung, in Normalserum und im Untersuchungsgegenstand.

Zu Frage I: Die Zuverlässigkeit der Methode kann manchem Zweifel unterzogen werden. Denn die Ergebnisse vieler Versuchsreihen weisen zum Teil ganz erhebliche Unterschiede in ihren Indices auf. Da die Nährlösung der einzige Untersuchungsgegenstand war, dessen Zusammensetzung vollständig bekannt war, wurde an ihm eine Reihe von Versuchen auf die Zuverlässigkeit der Methode an sich angestellt. Sie haben zu Ergebnissen geführt, die für das Verfahren sprechen.

Tabelle I

	Zunahme in %		(für K. Index stets 100)
Nr.	Kontr.-V.	Leer-V.	Leer-V.
1	91	95	100
2	91	91	100
3	72	70	98
4	72	73	101
5	63	65	105
6	75	73	98
7	68	67	99
8	68	67	99

Acht Parallelversuche in reiner Nährlösung — Leerversuche, wie sie Johanning nennt — zeigen Indices, die genau mit den

Kontrollversuchen übereinstimmen oder nur geringe Abweichungen aufweisen. Der Mittelwert ist 100. Aber nicht nur diese Versuche stimmen in ihren Werten überein, sondern auch eine ganze Anzahl anderer Kontroll-Versuche mit Nährlösung verschiedener Versuchsreihen, die unabhängig von einander bei gleicher Anfangslänge der Keimlinge angesetzt wurden.

Von Balint und Weiß ist, wie schon erwähnt, angegeben worden, daß saures Serum das Wachstum hemmt und alkalisches es fördert, während Macht einen Unterschied in der Wasserstoffionenkonzentration als Ursache ablehnt.

Ein Unterschied in der aktuellen Reaktion zwischen reiner Nährlösung, wie sie für die Kontrollversuche verwendet wurde, und Nährlösung + Serum oder anderen Untersuchungsgegenständen, scheint nicht die Ursache zu sein für den unterschiedlichen Einfluß auf die Längenzunahme der Keimlinge. Für die Nährlösung ist das PH 4,75. Versuche bei denen die aktuelle Reaktion stärker verändert wurde, als es durch Hinzufügen von Serum der Fall ist, zeigten keine Abweichungen im Index. Es kamen 6 verschiedene Lösungen mit einem PH bis 5,6 zur Untersuchung, deren Index im Durchschnitt 108 ⟨100⟩ beträgt, wobei die einzelnen Werte etwas schwanken. Ein beachtenswerter Einfluß der aktuellen Reaktion auf das Wachstum liegt demnach nicht vor.

Zu Frage II: Schon das Serum vom gesunden Menschen — der Einfachheit halber Normalserum genannt —, zu 1% mit der Nährlösung gemischt, weist einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Keimlinge auf. Macht und Adler Sinek und Reimann geben den Wachstumsindex für das Normalserum mit 75 bezw. 76 an.

39 solcher Versuche mit Normalserum wurden angesetzt, deren Mittelwert für den Index 72 ist. Die Ergebnisse sind nicht einheitlich. Etwa zwei Drittel von ihnen bewegen sich in ihrem Index nahe um 70 herum, während der Rest erhebliche Abweichungen aufweist. Der niedrigste Wert, der allerdings ganz vereinzelt dasteht, liegt bei 24, wogegen 4 Versuche die höchsten Werte aufweisen, die bei 100 und nahe darüber liegen.

Worin die großen Unterschiede ihre Ursache haben, konnte nicht einwandfrei geklärt werden. Auffallend ist, daß diese Schwankungen fortfallen, seitdem das Blut für die Normalserumversuche nur noch von einer Person entnommen wurde. Die Frage muß offen bleiben, ob schon in dem Normalserum Schwankungen des Gehaltes von hemmenden Stoffen vorkommen. Es mag sein, daß in dem vorher verwendeten Blut als gesund angesehener Personen Veränderungen statt hatten, die in mehr oder weniger starkem Maße die Wachstumshemmung des Normalserums beeinflußten — wie ja schon von verschiedenen Verfassern gezeigt wurde, daß vielerlei bekannte und wohl auch noch z. Zt. unbekannte Momente solche Wirkungen herbeiführen können.

Serum, welches 6 Tage im Kühlschrank aufbewahrt wurde, hatte seine hemmende Fähigkeit nicht verloren oder geändert.

Wenn auch, wie schon erwähnt, 4 Versuche überhaupt keine Wachstumshemmungen aufweisen, und sie bei einigen anderen angezweifelt werden kann, so ist für die Gesamtheit die Hemmung so augenfällig, daß die Anwesenheit eines hemmenden Prinzipes oder „Stoffes" angenommen werden muß.

Zu Frage III: Für das Serum an perniciöser Anämie erkrankter Patienten hat Macht einen Index festgestellt, der zwischen 28 und 52 schwankt und im Mittel 44 beträgt. Verschiedene Autoren bestätigen diese Angabe, nur liegen die Werte höher; für den Durchschnitt z. B. bei Adler, Sinek und Reimann bei 50 im Vollstadium, während sie in der Remission zwischen 55 und 69 schwanken. Anders sind die Ergebnisse unter anderem von Johanning, der bei 7 Versuchen mit Perniciosaserum Schwankungen zwischen 17 und 100 festgestellt hat.

Ebenso wie mit Normalserum wurden die Versuche mit Perniciosaserum in 1%iger Mischung mit der Nährlösung ausgeführt. Die Diagnose konnte in allen diesen Fällen als gesichert angesehen werden.

Tabelle II

Nr.	Index für Norm. S.	Index für Pernic. S.	Bemerkung
1	71	71	Remission, 85% Hb
2	42	35	
3	82	66	
4	44	32	35% Hb
5	61	47	
6	72	80	40% Hb
7	87	67	
8	86	39	Remission
9	52	71	
10	87	52	Remission
11	92	67	Remission
12	68	39	
13	24	24	
14	72	80	25% Hb
15	61	13	
16	72	71	
17	72	37	Remission
18	77	38	
19	61	45	
20	72	78	Remission. 75% Hb
21	75	46	
22	72	61	45% Hb

Die Ergebnisse dieser 22 Versuche zeigen Indices, deren niedrigster Wert 13, deren höchster Wert 80 ist. Als Mittelwert ergibt sich ein Index von 53.

Aus der Tabelle II ist zu ersehen:

1. Bei 6 Versuchen übersteigt der Index für das Perniosaserum den des Normalserums oder ist ihm gleich, in dreien kommt er ihm sehr nahe. 9 von 22 Versuchen, also 40%, weisen einen Index auf, der dem durchschnittlichen für die 39 Versuche mit Normalserum sehr nahe liegt oder ihn sogar übersteigt, wobei von den Normalserumversuchen die noch hinzukommen, deren Index in der Nähe des Mittelwertes für die perniciöse Anämie liegt. Es befindet sich also zwischen den beiden Mittelwerten ein Feld, welches von beiden Seiten stark beansprucht wird. Sie nähern sich beide, Normal- wie Perniciosaserum, mit gleichem Hundertsatz, etwa 40% ihrer

Versuchsanzahl, dem gegenseitigen Mittelwert. Es ist wichtig, dies hervorzuheben und zu beachten, weil es trotz deutlicher Differenz der Durchschnittswerte für die Indices von Normal- und Perniciosaserum, die eine gesteigerte Hemmungsfähigkeit der Anämia pernicios a erkennen lassen, nicht möglich ist, dem Lupinenversuch diagnostisch einen einflußreichen Platz einzuräumen. Namentlich auch, weil abgesehen von erheblichen Schwankungen, die Werte bis in den Bereich des Normalserums aufweisen, die gesteigerte Hemmung für das Perniciosaserum nicht spezifisch ist. Denn es ist ein verminderter Wachstumsindex noch für verschiedene Krankheiten und Stoffe nachgewiesen worden. ‹s. oben›.

2. Es ist beachtenswert, daß der Grad der Wachstumshemmung unabhängig zu sein scheint von dem Krankheitsstadium und dem Zustand des Patienten. Für das Serum eines Patienten, der einen Hämoglobingehalt von 25% hatte, betrug der Index 80. Ebenso hoch war er in einem anderen Fall mit 40% Hämoglobin. Es fehlt aber auch nicht unter anderen an einem Fall, bei dem bei niedrigem Hämoglobingehalt von 35% der Index nur 32 betrug. Auf der anderen Seite zeigt das Serum von 4 in Remission befindlichen Kranken, deren Blut fast normalen Hämoglobingehalt aufwies und auch fast normale Erythrocytenzahl, auch schwankende Werte, die jedoch geringere Differenzen aufweisen und sich zwischen 40 und 70 bewegen. Bei einem Versuch mit dem Serum eines sich in Remission befindenden Patienten war der Kontrollversuch ganz auffallend im Wachstum zurückgeblieben, während die Parallelversuche, Normal- und Perniciosaserum, im Vergleich zu anderen Versuchsreihen ungestörten Verlauf genommen hatten. Es läßt sich der Index für diese beiden Versuche, der bei Berechnung auf den zugehörigen Kontrollversuch sehr abwegige Werte ergibt, auf die Durchschnittszunahme aller Kontrollversuche, die 68% der Anfangslänge beträgt, errechnen. Es ist dies erlaubt, weil die Differenz der Längenzunahme des Normal- und Perniciosaserumversuchs der entsprechenden Differenz bei den Mittelwerten aller gleichen Versuche gleichkommt, hier 1°, dort 20. So berechnet beträgt der Index für diesen Fall perniciöser Anämie in Remission 38.

Er liegt also an der unteren Grenze der für die gleichen Fälle angegebenen Schwankungsbreite.

Erythrocytenzahl, Hämoglobingehalt, Lebertherapie und der Zustand des Patienten bei perniciöser Anämie lassen also einen regelmäßig wiederkehrenden Einfluß auf das Wachstum der Keime vermissen. Dem Lupinenversuch muß demnach auch die Befähigung abgesprochen werden, Aufschluß über das Krankheitsstadium und den Zustand des Patienten geben zu können.

Zu Frage IV: 8 Anämien verschiedenen, nicht perniciösen Ursprungs, wurden auf ihren wachstumshemmenden Einfluß untersucht.

Tabelle III

Nr.		Index	Bemerkung
1	Sekund. Anämie	24	45% Hb
2	„ „	63	51% Hb
3	„ „	65	
4	„ „	73	30% Hb
5	„ „	120	F. I. 1,0
6	Botriocephal. A.	77	40% Hb
7	Aplast. Anämie	71	
8	Unklare „	77	

Mit dem Serum sekundärer Anämien — Blutungsanämien, meist bei Ulcus ventriculi bezw. duodeni —, für die von Macht ein Index von 64 angegeben wird, wurden 5 Versuche angestellt. Im Durchschnitt beträgt ihr Index 69. Der Index eines dieser Versuche ist 120. Es konnte nicht geklärt werden, warum in diesem Fall eine so starke Abweichung vorlag. Die klinische Diagnose lautete bei der Entlassung: Schwere sekundäre Anämie, der Färbeindex war 1, das Blutbild aber gab keinen Anhalt für perniciöse Anämie, auch war Lebertherapie ohne Erfolg.

Für eine Botriocephalusanämie war der Index 77, und 71 für eine aplastische Anämie, deren Blutbild nicht dem einer perniciösen Anämie entsprach, und bei der auch die Lebertherapie versagte. Schließlich wurde noch das Serum einer schwer anämischen Patientin untersucht. Es handelte sich nicht

um eine typische Anämia perniciosa. Die Diagnose sekundäre Anämie wurde nur mit äußerstem Vorbehalt gestellt. Auch dieses Serum zeigte scheinbar keine gesteigerte Hemmungsfähigkeit. Der Index beträgt 77. Vergleicht man ihn aber mit dem parallel laufenden Normalserumversuch, so ist die Differenz der beiden Indices ⟨15⟩ fast gleich der, die zwischen den Durchschnittsergebnissen aller Normalserum- und Perniciosaserumversuche besteht ⟨18⟩. Eine gesteigerte Hemmungsfähigkeit könnte demnach hier vielleicht doch als vorhanden angenommen werden.

Es scheint die Ablehnung, die gesteigerte Hemmungsfähigkeit des Perniciosaserums zur Diagnose zu verwerten, eine Ausnahme erfahren zu dürfen im Hinblick auf die Differentialdiagnose gegenüber anderen Anämien. Denn bei diesen hat es sich gezeigt, daß die Werte für den Wachstumsindex keine verstärkte Hemmungsfähigkeit aufweisen. Jedoch darf die Ausnahme nur mit starker Zurückhaltung geschehen, eben wegen der erheblichen Abweichungen der perniciösen Anämie vom Mittelwert, vor allem nach oben zum Index für das Normalserum hin.

Zu Frage V: Adler, Sinek und Reimann weisen darauf hin, daß das Fehlen der baktericiden Kräfte gegen Bakterium coli hämolyticum im Blute parallel geht mit der Fähigkeit gesteigerter Wachstumshemmung der perniciösen Anämie. Sie schließen daraus, „daß bei der perniciösen Anämie vom Darm ausgehende Intoxikationsvorgänge bakteriellen Ursprungs bestehen, die mit dem Verlauf von Remission und Recidiv parallel gehen."

Es hat sich in einer Reihe von Versuchen gezeigt, daß die Anwesenheit von Coli- oder anderen Toxinen allein nicht verantwortlich gemacht werden kann für die verstärkte Wachstumshemmung der perniciösen Anämie. 11 Versuche wurden so ausgeführt, daß zu der Nährlösung Colitoxin in verschiedenen Verdünnungen zugesetzt wurde. In 5 Versuchen mit einer Verdünnung von 1 : 10000 war der Index 95. In weiteren 5 mit einer Verdünnung von 1 : 1000 war er 91, und bei einer Verdünnung von 1 : 100 betrug er 79. Nicht anders liegen die

Ergebnisse bei 8 Versuchen mit Staphylokokkentoxin. 4 von ihnen haben bei einer Verdünnung von 1 : 10000 einen Index von 101 und bei 1 : 1000 von 96. Nennenswerte Steigerung der Wachstumshemmung findet sich also nur bei dem Versuch mit Colitoxin in einer Verdünnung von 1 : 100, einer Konzentration, wie sie für das Blut wohl kaum je in Frage kommt.

Nicht unmöglich erscheint es jedoch gerade im Anschluß an die Feststellungen von Adler, Sinek und Reimann, daß die Anwesenheit von Colitoxin im normalen Blut in irgendwelchen Bestandteilen seines Serums zu Veränderungen führt, die die gesteigerte Hemmung der Anämia perniciosa bedingen. Und da, wie oben bereits dargestellt, das Normalserum an sich schon das Wachstum der Keimlinge hemmt, lag es nahe, anzunehmen, daß zwischen den hemmenden Eigenschaften des Normal- und Perniciosaserums nur quantitative Unterschiede bestehen, und zuerst einmal zu versuchen, das hemmende Prinzip des Normalserums festzustellen oder zum wenigsten zu umgrenzen. Besondere Aufmerksamkeit galt dem Hauptbestandteil des normalen Serums, den Eiweißkörpern. Die nächste Aufgabe war also, herauszufinden, ob diese an dem Einfluß auf das Wachstum der Lupinenkeimlinge beteiligt sind, und welcher Gruppe unter ihnen diese Eigenschaft zukommt.

Zur Beantwortung der Teilfrage nach dem Einfluß der Eiweißkörper des Serums überhaupt, galt es, eine quantitativ eiweißfreie Lösung herzustellen. Da dieses nicht vollständig und vor allem kaum ohne Veränderungen im Serum erreicht werden konnte, mußten die einzelnen Eiweißgruppen für sich einer Untersuchung unterzogen werden, um so die eine oder andere für die Wirkung der gesteigerten Wachstumshemmung der Keime auszuschließen.

Eine weitgehende Fällung der Eiweißkörper läßt sich erreichen mit der Methode von Michaelis und Rona [18]. Sie gründet sich darauf, daß durch Hinzufügen von kolloidalem Eisenhydroxyd zum Serum das entgegensetzt geladene Kolloid eine gegenseitige Flockung herbeiführt.

5 ccm Serum werden mit 5 ccm Aqua dest. verdünnt. Zu dieser Lösung werden unter ständigem, kräftigem Schütteln 25 ccm 5 fach mit Aqua dest. versetzten Eisenhydroxyds tropfenweise hinzugegeben. Der Niederschlag läßt sich nach wenigen Minuten abfiltrieren. Das Filtrat ist wasserklar und frei von Eiweiß und Eisen. Es wird mit Aqua dest. so weit verdünnt, daß nach dem Zufügen von gleichen Teilen Shive-lösung eine 1%ige Serum-Nährlösungmischung entsteht. In diese werden die Keime zu den Versuchen gesetzt.

12 Versuche wurden mit dem nach der beschriebenen Methode enteiweißten Serum ausgeführt. Der Durchschnitt des Index ist 96, die einzelnen Werte schwanken zwischen 79 und 107.

Tabelle IV

Nr.	Index für Norm. S.	Enteiw. S.
1	65	107
2	65	79
3	65	79
4	65	104
5	75	101
6	75	94
7	67	107
8	72	101
9	72	84
10	72	97
11	72	98
12	72	98

Es zeigt sich also, daß nach Entfernung der durch Eisen-hydroxyd fällbaren Eiweißkörper die hemmende Wirkung des Serums aufgehoben ist. Bis zu welchen Gruppen die Eiweiß-körper und -bausteine durch das kolloidale Eisenhydroxyd ge-fällt werden, läßt sich genau nicht angeben. Es scheinen die Albumosen und sicher auch ein Teil der Peptone beteiligt zu sein, denn in einer 0,5%igen Witte-Peptonlösung läßt sich eine Fällung mit Eisenhydroxyd erzielen, die jedoch nicht alles Ei-weiß erfaßt. Denn die Sulfosalizylsäure- und Biuretprobe bleiben positiv.

Da nun die gefällten Serumbestandteile keine einheitliche Gruppe darstellen, sondern sich unter ihnen die genuinen Ei-

weiße wie auch schon ihre Abbauprodukte finden, mußte eine weitere Differenzierung unter ihnen vorgenommen werden. Denn durch den Ausfall der Versuche mit dem durch Eisenhydroxyd enteiweißten Serum wurde die Vermutung bestätigt, daß die Eiweißkörper an der hemmenden Wirkung des Serums beteiligt sind, und somit der Weg gewiesen, auf dem der hemmende Stoff zu suchen sei.

Der Hauptbestandteil der im vorigen Abschnitt eliminierten Serumbestandteile sind die genuinen Eiweißkörper, von denen im Serum vor allem Serumalbumin und Serumglobulin vorhanden sind. Sie lassen sich durch Hitzedenaturierung und Filtrieren weitgehend entfernen. Erwärmen ist eine spezifische Methode zur Isolierung der genuinen Eiweißkörper, wobei das Optimum für die Koagulation, das Löslichkeitsminimum der einzelnen Gruppen bei verschiedenen isoelektrischen Punkten zu finden ist. Da es nicht durchführbar war, das Optimum für jede einzelne Gruppe zum Koagulieren herzustellen, wurde das Serum ohne Aenderung seiner aktuellen Reaktion verwandt. Jedoch war in der Mischung mit Nährlösung, in der das Serum zum Erhitzen gebracht wurde, die aktuelle Reaktion zu Gunsten des isoelektrischen Punktes der Albumine und Globuline ⟨P_H —5,4⟩ durch die Shivelösung ⟨P_H —4,75⟩ verschoben worden. — Erhitzte Nährlösung zeigte gegenüber dem Kontrollversuch keine Aenderung im Wachstumseinfluß. — Das Erhitzen der genuinen Eiweiße in verdünnten Lösungen vorzunehmen ist notwendig, da die Konzentration in reinem Serum so groß ist, daß die koagulierbaren Eiweißkörper bei der Koagulation in unverdünnten Lösungen Teile der nächsten Gruppe mit sich niederreißen würden. Es hat also die Verdünnung des Serums mit der Shivelösung zwei Vorteile: die Begünstigung des Löslichkeitsminimums und Sicherung der nächsten Gruppen.

Wie in den vorausgegangenen Versuchen wurde das Serum 1%ig mit der Nährlösung gemischt. Durch Erhitzen auf 100° wurde das genuine Eiweiß koaguliert und denaturiert. Das klare Filtrat gab die Lösung her, in der die Keimlinge

wuchsen. 7 Versuche dieser Art weisen Indices auf, deren Werte zwischen 57 und 86 liegen.

Tabelle V

Nr.	Index für Norm. S.	Gekochtes S.
1	77	61
2	59	55
3	72	81
4	72	85
5	61	66
6	95	86
7	59	52

Der Durchschnittsindex ist 70 ⟨63⟩, die hemmende Fähigkeit demnach nicht aufgehoben. Es läßt sich daraus einmal schließen, daß der hemmende „Stoff" hitzebeständig ist. Zum andern zeigen die Ergebnisse, daß die genuinen Eiweißkörper für die Wachstumshemmung der Keimlinge nicht allein verantwortlich zu machen sind.

Nach diesen Ergebnissen lag es nahe, die genuinen Eiweiße, bei deren weitgehender Entfernung durch Hitzekoagulation der Einfluß des Serums auf das Wachstum unverändert bestehen bleibt, für sich gesondert auf ihre hemmenden Eigenschaften zu untersuchen.

Rossi[19] hat eine Methode angegeben, mit der es gelingt, die kolloidal gelösten Eiweißstoffe zu isolieren, ohne das Serum durch Erwärmen oder Zusatz von anderen Substanzen zu verändern. Die Methode von Michaelis und Rona, die dasselbe Ziel erstrebt, ist für diese Untersuchungen nicht geeignet, da am Ende der Trennung das Filtrat Alkohol und in geringen Mengen Elektrolyten enthält, wodurch neue, unbekannte Faktoren für die Wachstumshemmung entstehen können.

Nach Rossi wird das Serum zu wiederholten Malen gefroren und während des Zentrifugierens wieder aufgetaut. Es scheidet sich bei genügend häufiger Wiederholung dieses Prozesses in den Gläsern ein Bodensatz ab, der alle kolloidal gelösten Körper enthält.

Nachdem das Serum nach dieser Methode in seine kolloidalen und kolloidfreien Bestandteile getrennt war, wurde die Nährlösung jeweils zu 1% mit den einzelnen Gruppen versetzt. Mit den Kolloiden wurden 8 Versuche vorgenommen, deren Indices zwischen 72 und 108 liegen. Ihr Mittelwert ist 90 ⟨81⟩.

Tabelle VI

Nr.	Index für Norm. S	Kolloide
1	75	84
2	61	98
3	72	108
4	74	92
5	81	100
6	71	80
7	72	73
8	86	88

Eine Wachstumshemmung findet nicht statt. Es läßt sich daraus folgern, daß die genuinen Eiweiße nicht nur für die Hemmung des Wachstums nicht allein verantwortlich zu machen sind, wie die Versuche mit dem durch Kochen koagulierten und denaturierten Eiweiß gezeigt haben. Vielmehr läßt sich aus diesen Ergebnissen schließen, daß die kolloidal gelösten Bestandteile, die im wesentlichen aus den genuinen Eiweißen, Albuminen und Globulinen bestehen, an der Wachstumshemmung der Keimlinge nicht beteiligt sind.

Mit dem kolloidfreien Teil wurden 8 Versuche ausgeführt.

Tabelle VII

Nr.	Index für Norm. S.	kolloidfr. S.
1	75	54
2	61	80
3	72	98
4	74	68
5	81	77
6	71	74
7	72	51
8	76	54

Die Werte für die Indices liegen zwischen 50 und 80. Ein Versuch fällt ganz aus der Reihe heraus mit einem Index von 98. Im Durchschnitt ist der Index 69 ⟨81⟩. Die Hemmung entspricht der des unveränderten Normalserums.

In diesem kolloidfreien Teil des Serums sind die Eiweißbausteine von den Aminosäuren bis zu den Peptonen und Albumosen enthalten. An eine Gruppe von ihnen scheint die hemmende Wirkung auf das Wachstum der Keime gebunden zu sein. Diese Annahme findet eine Stütze in den Ergebnissen der Versuche mit gekochtem Serum. Dort waren durch Hitze-

koagulation die gemeinen Eiweiße entfernt worden, und es kamen nur die nicht koagulierbaren Eiweißbausteine von den Aminosäuren bis zu den Albumosen zur Wirkung. Bei beiden Versuchsarten war der hemmende Einfluß nicht aufgehoben, der hemmende Stoff mußte sich also unter den nicht kolloidal gelösten Eiweißkörpern finden.

Eine weitere Methode, die zur Scheidung der Eiweißkörper zur Anwendung gebracht wurde, war die Dialyse.

Es diffundieren durch die Membran die Aminosäuren und die Peptone, dazu noch ein mehr oder weniger großer Teil der Albumosen. Es hängt dies von der Größe der Moleküle und der Porenweite der Membran ab. Die Salze diffundieren ebenfalls. Nicht durchgängig ist die Membran für die kolloidal gelösten Eiweißkörper, von denen bei der Dialyse die Globuline ausfallen, da ihnen die Salze, durch die sie in Lösung gehalten werden, entzogen werden.

Die Dialysen wurden ausgeführt in Dialysierhülsen die von der Fa. Karl Schleicher & Schüll in Düren bezogen wurden. Eine sorgfältige Prüfung auf ihre Dichtigkeit war stets vorausgegangen. Bei Zimmertemperatur wurde 36—48 Stunden in fließendem, destilliertem Wasser dialysiert. Die Sulfosalicylsäureprobe im Dialysat war ebenso wie die Biuretprobe positiv. Zu 1% wurde die Nährlösung mit dem Inhalt der Hülsen versetzt.

Tabelle VIII

Nr.	Index für Norm. S.	Dialys. S.
1	75	88
2	76	84
3	67	77
4	65	81
5	65	64
6	68	77
7	68	84
8	68	87
9	68	73
10	79	79
11	72	70

11 Versuche zeigen Indices, welche zwischen 70 und 88 liegen. Nur ein Versuch weicht etwas ab mit einem Index von 64.

Der Mittelwert ist 79. Die Hemmung des Wachstums ist bei diesen Versuchen mit dialysiertem Serum nicht so stark wie in den Versuchen mit unverändertem Normalserum oder seinem kolloidfreien Teil oder mit gekochtem Serum. Es scheint dieses Ergebnis seine Begründung darin zu finden, daß durch die Dialyse eine Trennung der Eiweißbausteine stattfindet, sodaß nur die nicht diffundierten Albumosen zur Wirkung kommen, deren Menge aber nicht ausreicht, um zu demselben Index wie bei den Versuchen mit dem ungeteilten Serum zu führen. Von den genuinen Eiweißen sind die Globuline durch den Entzug der Salze ausgefallen. Ihnen kommt daher ebenso wenig mehr ein Einfluß auf das Wachstum der Keime zu, wie den Eiweißbausteinen von den Peptonen abwärts, die in das Dialysat mitsamt den Salzen übergetreten sind. Bestätigt wird diese Feststellung für die Aminosäuren noch durch die Versuche mit dem durch Eisenhydroxyd enteiweißten Serum, in dem sie noch enthalten sind. Sie lassen neben der Beobachtung, daß irgendwelche Eiweißabbauprodukte für die Beeinflußung des Wachstums der Keimlinge verantwortlich zu machen sind, erkennen, daß diese Eigenschaft den Aminosäuren nicht zukommt. Denn hier, wo eine weitgehende Enteiweißung stattgefunden hat, findet bei Anwesenheit der Aminosäuren und wohl auch noch eines kleinen Teiles höherer Abbauprodukte keine Beeinflußung des Wachstums statt. Da auch die Albumine für eine Beeinflußung des Wachstums der Keime durch die Versuche mit Hitzekoagulation ausgeschlossen sind, bleiben nur noch die Albumosen und nicht diffundierten Peptone als die für die Hemmung verantwortlichen Substanzen übrig.

Es lag nahe, den Einfluß der größermolekularen Eiweißabbauprodukte gesondert zu untersuchen. Dazu wurde Witte-Pepton verwendet, das in verschieden konzentrierten Lösungen zur Untersuchung kam.

Tabelle IX

Witte-Pepton.

Nr.	Verdünnung	Index
1	0,06%	70
2	0,06%	62
3	0,25%	44
4	0,25%	39
5	0,25%	49
6	0,25%	44
7	1,00%	36
8	1,00%	26
9	1,00%	37
10	1,00%	25

2 Versuche mit einer 0,06%igen Lösung haben einen durchschnittlichen Index von 66. Bei 4 Versuchen mit 0,25%iger Lösung schwankt der Index zwischen 39 und 49, der Mittelwert ist 44. In 1%iger Verdünnung zeigen 4 Versuche Werte von 25 bis 37, im Durchschnitt liegt der Index hier bei 31. Der Einfluß, den Pepton auf das Wachstum der Keimlinge nimmt, ist in diesen Versuchen sehr augenfällig. Beachtenswert ist, daß mit gesteigerter Konzentration auch die Hemmung wesentlich zunimmt.

Ein Vergleich dieser Untersuchungen mit denen, die an gekochtem, dialysiertem und in seine kolloidalen und kolloidfreien Bestandteile getrenntem Serum angestellt wurden, zeigt, daß die höher-molekularen Eiweißabbauprodukte an dem das Wachstum der Keimlinge hemmenden Einfluß des Normalserums sicher wesentlich beteiligt sind, nachdem das Gleiche für die Aminosäuren verneint werden konnte. Denn überall da, wo sie Einfluß auf das Wachstum nehmen konnten, wie in den Versuchen mit dem durch Kochen enteiweißten Serum, dem dialysierten Serum und den kolloidfreien Serumbestandteilen wird eine Hemmung erzielt. Auf der anderen Seite bleibt dieser Einfluß aus, wenn sie, wie bei den Versuchen mit dem durch Eisenhydroxyd enteiweißten Serum oder den Versuchen mit den kolloidalen Bestandteilen des Serums, aus dem Untersuchungsgegenstand entfernt worden sind.

Wenn den Eiweißabbauprodukten, und unter ihnen den höher-molekularen, Albumosen und Peptonen, ein hemmender

Einfluß auf das Wachstum der Lupinenkeimlinge zukommen sollte, worauf die vorangegangenen Versuchsreihen hinweisen, dann durfte erwartet werden, daß bei vermehrter Anwesenheit dieser Gruppen im Serum auch eine vermehrte Wachstumshemmung stattfindet. Da anzunehmen ist, daß eine Vermehrung solcher Abbauprodukte im Serum sich unter anderem bei stark destruktiven Prozessen im Organismus, vor allem beim Carcinom und bei der Tuberkulose findet, schien die Letzte besonders geeignet für die Untersuchung, da sich bei ihr der Grad der Schwere und des Gewebszerfalles verhältnismäßig gut feststellen läßt.

Das Serum von 2 Patienten*) mit fortgeschrittener Phthise kam in 1% iger Lösung zur Untersuchung. Bei dem Patienten A. lautete die klinische Diagnose: Schwere kavernöse Phthise. Der Zustand des Patienten war leidlich, bis er sich zur Zeit der Blutentnahme akut verschlechterte, was seine Erklärung in einer sich da erst zeigenden Mitbeteiligung des Intestinaltraktes fand. Wenige Tage nach der Blutentnahme starb der Patient. Die Oeffnung der Leiche wurde nicht vorgenommen. Die Keimlinge wurden durch das Serum dieses Patienten in ihrem Wachstum vermehrt gehemmt, der Index beträgt 59.

Die klinischen Daten bei dem Patienten B. sind ähnlich wie die bei dem Vorigen. Auch hier handelte es sich um eine fortschreitende kavernöse Phthise. Das Röntgenbild zeigte mehrere Hohlräume in den Lungenoberfeldern. Die Temperaturen waren zur Zeit der Blutentnahme um 2—2,5° erhöht. Der Index für das Wachstum der Keimlinge in diesem Serum ist 61.

Das Ergebnis dieser beiden Versuche mit einem durchschnittlichen Index von 60 macht die Annahme, daß eine Vermehrung der Abbauprodukte im Serum eine vermehrte Wachstumshemmung zur Folge hat, weiterhin wahrscheinlich.

Diese Beobachtung, zusammen mit den Ergebnissen der Untersuchung an Witte-Pepton und dem in seine Bestandteile getrennten Serum lassen den Schluß berechtigt erscheinen,

*) Die Krankengeschichten sowohl wie das Material wurden von der Med. Klinik in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt.

daß der das Wachstum hemmende „Stoff" des Normalserums den höher-molekularen Eiweißabbauprodukten des Normalserums nahesteht, vielleicht sogar mit den Albumosen und Peptonen identisch ist, und daß die gesteigerte Hemmungsfähigkeit des Serums perniciöser Anämien auf einer Vermehrung dieser Substanzen beruht.

Unter den Abbauprodukten der Aminosäuren gilt das Histamin als besonders pathogen für den Menschen. Da seine pharmakologische Wirkung auf den tierischen Organismus bekannt ist, war die Feststellung von Interesse, ob es auch eine phytopharmakologische besitzt. Es wurden 6 Versuche mit Imido-La Roche ausgeführt. Sie lassen eine Abstufung nach dem Grade der Verdünnung vermissen. Ihr Durchschnittswert ist 89.

Tabelle X

Histamin.

Nr.	Verdünnung	Index
1	1 : 100 000	88
2	1 : 25 000	81
3	1 : 10 000	100
4	1 : 2 500	96
5	1 : 1 000	84
6	1 : 500	82

Histamin ist demnach nicht in der Lage, das Wachstum der Keimlinge in dem Maße zu beeinflussen, wie es durch das Normalserum geschieht.

Tabelle XI

Nr.	Zahl der Versuche	Untersuchungsgegenstand	Index
1	80	Nährlösung	100
2	8	„ „ , Leerversuche	100
3	6	Akt. Reakt. ⟨PH bis 5,6⟩	108
4	39	Normalserum	72
5	22	Perniciosaserum	53
6	5	Sekundäre Anämien	69
7	1	Bothriocephalus Anämie	77
8	1	Aplastische Anämie	71
9	1	Unklare Anämie	94
10	1	Colitoxin 1 : 100	79
11	5	„ „ 1 : 1 000	91
12	5	„ „ 1 : 10 000	95

Nr.	Zahl der Versuche	Untersuchungsgegenstand	Index
13	4	Staphyl. tox 1 : 1 000	96
14	4	„ „ 1 : 10 000	101
15	12	m. Eisenhydr. enteiw. S.	96
16	7	Gekochtes Serum	70
17	8	Serumkolloide	90
18	8	Kolloidfreies Serum	69
19	11	Dialysiertes Serum	79
20	2	Witte-Pepton 0,06%	66
21	4	„ „ 0,25%	44
22	4	„ „ 1,00%	31
23	2	Kavernöse Phthise	60
24	1	Histamin 1 : 100 000	88
25	1	„ 1 : 25 000	81
26	1	„ 1 : 10 000	100
27	1	„ 1 : 2 500	96
28	1	„ 1 : 1 000	84
29	1	„ 1 : 500	82

Zusammenfassend läßt sich sagen:

1. Die Macht'sche Methode ist bedingt verwertbar. Es empfiehlt sich, die Berechnung der Indices unter Berücksichtigung der Anfangslänge der Keimlinge vorzunehmen.
2. Aenderung der aktuellen Reaktion ⟨pH-Bereich 7,8 – 5,6⟩ der Nährlösung hat keinen Einfluß auf das Wachstum der Keimlinge.
3. Normalserum besitzt eine wachstumshemmende Fähigkeit.
4. Diese Wachstumshemmung ist bei der perniciösen Anämie meist verstärkt vorhanden.
5. Andere Anämien lassen vermehrte Hemmung vermissen.
6. Bakterientoxine beeinflussen das Wachstum in den physiologisch möglichen Konzentrationen nicht.
7. Der hemmende „Stoff" ist hitzebeständig.
8. Bei der getrennten Untersuchung der Eiweißkörper und -bausteine des Serums auf die Fähigkeit, das Wachstum der Keime zu hemmen, zeigen die höher-molekularen Abbauprodukte, Albumosen und Peptone diese Eigenschaft, während sie bei den genuinen Eiweißkörpern und den Aminosäuren vermißt wird.
9. Vermehrte Anwesenheit von Eiweißabbauprodukten hat vermehrte Wachstumshemmung zur Folge.

Literatur.

1. Macht,
   Journ. of pharm. and exp. therapeut. 1926 Bd. 29, S. 461 ⟨Kongreß-Zentral-Blatt 1927 Bd. 47, S. 505⟩.
2. Ders.,
   Journ. of the American. Med. Assoc. Bd. 85/10, S. 735 ⟨K. Z. Bl. Bd. 48, 1928, S. 403⟩.
3. Ders.,
   Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 123, S. 290, 1927 ⟨K. Z. Bl. Bd. 59, 1931, S. 797⟩
4. Adler, Sinek u. Reimann,
   Ztschr. f. Klin. Med. Bd. 110/3, S. 309 1929.
5. Bregmann,
   Schweiz. Med. Wschr. 1931 I S. 511 ⟨K. Z. Bl. Bd. 59, 1931, S. 581⟩.
6. Tscherkes u. Goldstein,
   Dtsch. Med. Wschr. 1929 II, S. 434.
7. Tscherkes,
   Proc. Soc. exp. Biol. a. med. 1929 Nr. 26, S. 869. ⟨K. Z. Bl. 1930 Bd. 55, S. 78⟩.
8. Upjon, Iaacs u. Gustafsohn,
   Arch. int. Med. 1928/42, S. 909 ⟨K. Z. Bl. Bd. 54, 1929, S. 40⟩.
9. Meyran u. Nothhaas,
   Kli. Wo. 1929/15, S. 697.
10. Johanning,
    Dt. Arch. f. Klin. Med. 1930 Bd. 167, S. 89. ⟨K. Z. Bl. Bd. 59, 1931, S. 680.⟩

11. Wachstein,
Ztschr. f. d. ges. exp. Med. 1929 Bd. 65, S. 450.
(K. Z. Bl. Bd. 55, 1930, S. 243).
12. Davidson,
Edinbg. Med. Journ. Bd. 35/6 (K. Z. Bl. Bd. 51, S. 100).
13. Adler, Sinek u. Reimann,
Med. Kl. 1928/22, S. 853.
14. Vedder,
Ergebn. d. ges. Med. u. Kinderhlkd. Bd. 38, S. 326, 329.
15. Jungmann,
Kli. Wo. 1928/10, S. 441.
16. Balint u. Weiss,
Gewebsproliferation u. Säure-Basen-Gleichgewicht,
Springer 1930.
17. Balint,
Mü. Med. Wschr. 1929/26, S. 1105.
18. Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden Lfrg. 192, S. 1078.
19. Handbuch d. physiol. Arbeitsmethode I S. 119.

Herrn Prof. Dr. Klewitz danke ich für das Thema zu dieser Arbeit und für die Förderung, die ich für sie und mein ganzes Studium von ihm erfahren durfte. Gleichen Dank schulde ich Herrn Dr. Habs für seine Anleitung und Hilfe. Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. Schwenkenbecher zu Dank verpflichtet für das Untersuchungsmaterial, welches mir aus der Medizinischen Klinik zur Verwendung und Veröffentlichung in dieser Arbeit zur Verfügung gestellt wurde.

Lebenslauf.

Am 15. September 1908 als fünftes Kind unter sieben Söhnen und einer Tochter des Pfarrers Siegfried Wiebel und seiner Frau Dorothee geb. Kähler geboren, wuchs ich, Siegfried Heinrich Theodor Wiebel in meinem Geburtsort Barmen auf, besuchte dort 4 Jahre die Volksschule, 9 Jahre das humanistische Gymnasium und erhielt Ostern 1927 das Reifezeugnis. Nach 5 semestrigem vorklinischem Studium in Greifswald legte ich dort am 24. Juli 1929 die ärztliche Vorprüfung ab. Nach weiteren 6 Semestern klinischen Studiums in Marburg, München, Düsseldorf und wieder in Marburg bestand ich am 6. 1. 33 hier die ärztliche Prüfung.

Meine Lehrer waren die Professoren und Privatdozenten
In Greifswald: Dragendorff, Peter, Pfuhl, Steinhausen, Wrede.
In Marburg: Arndt, Baur, Eimer, Freudenberg, Grüter, Hildebrand, Kehrer, Klapp, Klewitz, Kretschmer, Loebell, Naujoks, Neumann.
In München: Doederlein, Lexer, Oberndorfer, Pfaundler, Romberg, Saenger, Straub, Zumbusch.
In Düsseldorf: Hübschmann, Sioli.